

5

Publication No.: Hei.4-635
Published on: January 8, 1992
Application No.: Hei.2-16051
Filing Date: February 6, 1987
Divisional application of Sho.62-24716
Applicant: Director of National Food Research Institute,
Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries
Nikken chemicals Co., Ltd.
Inventors: Takashi Sasaki
Takafumi Kasumi
Keiji Kainuma
Hiroaki Ishizuka
Katsuo Wako
Gaku Kawaguchi
Tsunero Oda
Title: Method for preparing erythritol by fermentation
using novel microorganism

Claims:

1. A method for preparing erythritol by fermentation, which comprises inoculating Aureobasidium sp. SN-G42 strain on a culture medium containing fermentable sugars as a main carbon source, aerobically culturing said microorganism to form and accumulate erythritol in said culture medium and collecting the same.

⑫ 特 許 公 報 (B 2)

平4-635

⑤Int. Cl.⁵
 C 12 P 7/18
 // C 12 N 1/14
 (C 12 P 7/18
 C 12 R 1:645)

識別記号 庁内整理番号
 A 8114-4B
 9050-4B

②④公告 平成4年(1992)1月8日

発明の数 1 (全8頁)

④発明の名称 新規微生物を用いる発酵によるエリスリトールの製造方法

②特 願 平2-16051

⑤公 開 平3-43091

②出 願 昭62(1987)2月6日

③平3(1991)2月25日

②特 願 昭62-24716の分割

特許法第30条第1項適用 昭和61年度日本醸酵工学会大会において文書をもって発表

⑦発 明 者 佐 々 木 堯 茨城県新治郡桜村並木2丁目124-304
 ⑦発 明 者 春 見 隆 文 茨城県新治郡桜村吾妻2丁目911-204
 ⑦発 明 者 貝 沼 圭 二 茨城県新治郡桜村並木3丁目619
 ⑦発 明 者 石 塚 博 明 茨城県筑波郡谷田部町稲荷前17-12 沼尻アパート208
 ⑦発 明 者 若 生 勝 雄 埼玉県行田市持田5-10-2
 ⑦発 明 者 川 口 嶽 埼玉県行田市老里町21-16
 ⑦発 明 者 小 田 恒 郎 東京都秋川市下代継128
 ⑦出 願 人 農林水産省食品総合研 茨城県つくば市観音台2丁目1-2
 究所長
 ⑦出 願 人 日研化学株式会社 東京都中央区築地5丁目4番14号
 ⑦代 理 人 弁理士 久保田 藤郎
 審 査 官 鈴木 恵 理 子
 微生物の受託番号 FERM P-8940

1

2

⑥特許請求の範囲

1 オーレオバシディウムsp.SN-G42菌株を、
 発酵性糖類を主炭素源として含む培地に接種し、
 好氣的に培養して培養液中にエリスリトールを生
 成蓄積せしめ、これを採取することを特徴とする
 発酵によるエリスリトールの製造方法。

発明の詳細な説明

〔産業上の利用分野〕

本発明は新規微生物を用いる発酵によるエリス
 リトールの製造方法に関し、更に詳細には、オー
 レオバシディウム属に属する新規な人工変異株で
 あるオーレオバシディウムsp.SN-G42菌株及び
 当該変異株を用いて発酵性糖類をエリスリトール
 に変換することを特徴とする、新規微生物を用い
 る発酵によるエリスリトールの製造方法に関する。
 15

〔従来の技術及び発明が解決しようとする課題〕

従来から、キャンジダ属、デバリオミセス属、
 トリゴノブシス属、トルロブシス属、ハンゼヌラ
 属、モニリエラ属、オーレオバシディウム属など
 5 に属する微生物を利用して、発酵法によりグルコ
 ース、グリセリンなどの糖類からエリスリトール
 を製造する方法は既に公知となっている。

例えば、特公昭47-41549号公報には、キャン
 ジダ属、トリゴノブシス属に属する微生物を用い
 10 てグリセリンなどの発酵性糖類をエリスリトール
 に変換する方法が記載されている。しかし、この
 方法では微生物の耐糖性が低いために、主炭素源
 として使用される糖質濃度(基質濃度)に限界が
 あり、比較的低濃度で発酵を行う必要があつた。

また、特開昭60-110295号公報などには、モニ
 リエラ属に属する微生物を用いるエリスリトール

の改良製法が開示されている。この方法はエリスリトールへの変換率が高く、微生物の耐糖性も高いという点で優れているが、この微生物は泡の発生が著しく、通常使用される消泡剤では役に立たないため、高価なキサンタンガムなどを多量に添加する必要があり、そのために製造コストが高くなるという欠点がある。

更に、特開昭61-31091号公報には、本発明者らによりオーレオバシディウム属に属するオーレオバシディウムsp.SN-45菌株（微工研菌寄第7594号）を用いてグルコースなどの発酵性糖類からエリスリトールを製造する方法が開示されている。この方法は、比較的高濃度の糖質を用いてエリスリトールを製造することを可能にするものであるが、培養液中の菌体生成量に比べてエリスリトール収率が充分でなく、また製造条件であるpHの至適範囲が狭いなど、必ずしも満足のいく方法とは言い難い。

〔課題を解決するための手段〕

本発明者らは、上記したような従来方法の欠点を改良するために、オーレオバシディウム属に属する微生物の耐糖性を高めるべく、微生物の改良について種々検討した結果、沖縄県の澱粉工場内の土壌から分離された不完全菌類のオーレオバシディウム属に属するオーレオバシディウムsp.SN-124A菌株（微工研菌寄第8745号）を親株とし、これより得られた変異株であるオーレオバシディウムsp.SN-G42菌株が高いエリスリトール生産能を有すると共に、高い耐糖性を獲得していること並びに培養の際に泡を生成しないことを見出し、本発明に到達したものである。

即ち、本発明はエリスリトール生産能を有し、菌体（細胞）が親水性、非凝集性であり、且つ液体培地中で好氣的に培養するとき実質的に泡を生成しないことを特徴とするオーレオバシディウムsp.SN-G42菌株を用いて発酵性糖類を主炭素源として含む培地に接種し、好氣的に培養して培養液中にエリスリトールを生成蓄積せしめ、これを採取することを特徴とする発酵によるエリスリトールの製造方法に関する。

本発明に関わるオーレオバシディウムsp.SN-G42菌株は、親株であるオーレオバシディウムsp.SN-124A菌株に、紫外線を照射した後、引き続きN-メチル-N'-ニトロ-N''-ニトロソ

グアニジンなどの突然変異誘起剤を使用して処理することにより誘発された新規変異株である。

以下に、本変異株の菌学的性質を示す。

1 培地上の生育状況

(1) 顕微鏡的所見

栄養細胞の大きさ（※1） 4～7×4～15μ

栄養細胞の形状（※1） 菌糸および酵母様の単胞、卵形等の形状を示す。

栄養細胞の増殖法（※1） 菌糸及び酵母様細胞の多極出芽

菌糸体（※2） 真性菌糸を形成し、先端及び側面に全分芽型分生子を多数生ずる。

（註）

※1 YM寒天培地27℃、5日間培養

※2 ポテトグルコース寒天によるスライド培養

(2) 寒天斜面（※3）

生育 良好

形態 表面は平滑状

光沢 無し

色調 日数の経過に伴い白色からうすい黄黒色のコロニーに変化する。

（註）

※3 YM寒天培地

(3) 液体培養（※4）

表面生育 厚い皮膜形成

濁度 透明

沈査 大

（註）

※4 YM液体培地

2 子のう胞子の形成

ポテトグルコース寒天培地 形成せず

コーンミール寒天培地 形成せず

YM寒天培地 形成せず

ニンジンエキス寒天培地 形成せず

V₈寒天培地 形成せず

3 生理学的性質

酸素要求性

好氣的

生育温度

約40℃まで

最適生育温度

35～37℃

生育pH

2.5～10.0

最適生育pH

4.0～7.0

KNO₃資化性（※5）

有り

5

6

(NH ₄) ₂ SO ₄ 資化性 (※5)	有り	L-ソルボース	+
尿素の分解	無し	リビトール	-
ゼラチンの液化	無し	ガラクトール	-
カロチノイドの生成	無し	グリセロール	+
ファーストブルーB発色試験	無し 5	トレハロース	-
有機酸の生成	無し	ラクトース	-
デンプン様物質の生成	無し	メリビオース	-
ビタミンの要求性 (※5)	有り	D-マンニトール	-
グルコース濃度 (※6)	50%生育 卅	ラフィノース	+
	60%育成 卅 10	メレヂトース	+
食塩濃度 (※7)	2%育成 +	α-メチル-D-グルコシド	-
	10%生育 -	イヌリン	+
(註)		イノシトール	-
※5 ickerhamの合成培地を用いたJ. Lodderらの方法により判定	15	可溶性デンプン	-
※6 寒天培地		DL-乳酸	-
※7 液体培地		コハク酸	-
		クエン酸	-
4 糖の発酵性 (※5)		D-クルシトール	+
グルコース	+	グルクロン酸	-
ラクトース	- 20	アルブチン	+
ガラクトース	-	D-グルコサミン (HCl)	-
メリビオース	-	2-ケトグルコン酸	+
シュクロース	+	5-ケトグルコン酸	+
ラフィノース	-	上記の如き菌学的性質を有する本菌株は、オー	
マルトース	+	25 レオバシディウムsp.SN-124A菌株を親株とし	
D-アラビノース	-	て変異したものであり、且つ親株に近似した性質	
キシロース	-	を有していることから、オーレオバシディウム属	
トレハロース	-	に属する新規な変異株であると判断し、オーレオ	
イヌリン	-	バシディウムsp.SN-G42菌株とし命名した。	
5 糖、有機酸等の資化性	30	本菌株は、工業技術院微生物工業技術研究所に	
グルコース	+	「微生物受託番号 微工研菌寄第8940号」として	
D-キシロース	-	寄託されている。	
ガラクトース	-	このように、本発明に係わるオーレオバシディ	
エリスリトール	+	ウムsp.SN-G42菌株は、親株であるオーレオバ	
D-アラビノース	- 35	シディウムsp.SN-124A菌株の菌学的性質 (特	
L-アラビノース	-	願昭61-210669号参照) に近似しているが、硝酸	
D-リボース	+	塩の資化性が弱く、尿素非分解性及び炭素源の資	
シュクロース	+	化性などで若干異なる性質を有しており、また親	
L-ラムノース	-	株に比較して耐糖性が高い点 (後記試験例1参	
マルトース	+	40 照)、液体培地で好氣的に培養したとき実質的に	
エタノール	+	泡を生成しない点並びに菌体 (細胞) が親水性で	
メタノール	±	あり、且つ非凝集性である点 (後記試験例2参	
セロビオース	+	照) 及び平板寒天培地で静置培養したときのコロ	
サリシン	-	ニーの形態 (後記試験例3参照) においても相違	

を有している。

以下に、本発明に係わるエリスリトールの製造方法について述べるが、本発明の中で用いる%は特にことわりのない限り容量(W/V)%で示した。

本発明における培養は、通常液体培地を用いて好気的条件下に攪拌培養により実施されることが望ましい。

当該液体培地の主炭素源としてはグルコース、フルクトース、シユクロースなどの糖質が使用されるが、これらの糖質の培地中における量的割合としては10~55%、好ましくは20~50%の範囲で添加使用される。窒素源としては微生物により利用可能な窒素化合物、例えば酵母エキス、ペプトン、麦芽エキス、カザミノ酸、コーンステープリカーなどが使用される。また、培地に加える無機塩類としては、例えば硫酸第一鉄、塩化カリウム、塩化ナトリウム、リン酸二水素カリウム、水酸化カルシウムなどの塩類が使用される。更に、必要に応じて酵母の生育に必要な各種の有機物、無機物あるいは通常用いられる消泡剤などを添加することができる。

培養は、前記組成からなる液体培地に微生物菌体を直接接種するか、又は別に前培養によって得られる種培養液を接種して行われる。この種培養液の調製は、例えば常法により斜面培養した菌をグルコース33.5%、コーンステープリカー4.5%を含むpH 4~6の液体培地に1白金耳接種して34~36°Cの温度で2~4日間培養することにより行われる。

培養温度は微生物が生育しうる範囲内、即ち30~38°Cで行われるが、好ましくは35~37°Cの範囲である。

また、培地のpHは4~9、好ましくは4~7の範囲で調節される。

培養期間は使用する培地の種類及び主炭素源である糖質の濃度により異なるが、通常4~8日間程度である。

本発明における培養は、培地の栄養源が最大限に利用され、且つ培養液中のエリスリトールの生成量が最高に達した時点で培養を終了させることが望ましい。

なお、培養液中のエリスリトール生成量はガスクロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィ

ーなどの周知の方法を用いて速やかに測定することができる。

かくして、培養液中に蓄積されたエリスリトールは、常法に従って培養液中から分離される。即ち、斯かる場合に当該分野において通常使用されている周知の手段、例えばろ過、遠心分離、イオン交換又は吸着クロマトグラフィー、溶媒抽出、蒸留、結晶化などの操作が必要に応じて適宜組み合わせる。一例を挙げれば、培養液からろ過、遠心分離などによって菌体を除去し、次いでこの液を活性炭で処理して着色物質などを除き、更にイオン交換樹脂により脱イオンした後、液を濃縮してシロップとする。次に、このシロップからエリスリトール結晶化して分離する。エリスリトールを分離した後の母液中にグリセリンが含まれている場合には、これを更に減圧蒸留によって精製してグリセリンを得ることができる。

[実施例]

次に、本発明は試験例及び実施例により詳しく説明する。

以下に、本発明に係わるオーレオパシディウムsp.SN-G42菌株の特性を、親株であるオーレオパシディウムsp.SN-124A菌株と比較した。

試験例 1

(耐糖静試験)

●方法

酵母エキス(Difco社製)1.0%(W/V%を示す。以下、同じである。)、グルコース22.0~45.0%を含む培地を500ml容の三角フラスコにそれぞれ入れ、120°Cで15分間蒸気滅菌を行った。冷後、培地pHを5.5に調整し、これに種培養液6%を接種した後、30°C、180rpmで7日間回転培養を行った。

●結果

次頁に対消費グルコース当たりのエリスリトール収率を示した。

グルコース濃度 (%)	エリスリトール収率(%)	
	親株	変異株
22.0	38.3	40.5
27.5	38.0	41.1
33.5	36.5	38.4
39.5	28.8	37.5
45.0	15.7	37.0

表から明らかなように、親株であるオーレオバシディウムsp.SN-124A菌株は、培地のグルコース濃度が33.5%以下ではエリスリトールへの変換率が36.5~38.3%で良好な変換率を示すが、グルコース濃度が39.5%以上になると、グルコース濃度の上昇に伴って急激な変換率の低下が認められた。

これに対し、本発明の変異株であるオーレオバシディウムsp.SN-G42菌株は、培地のグルコース濃度が39.5%を越えてもエリスリトールへの変換率の低下が認められず、グルコース濃度が45.0%になると親株に比べ約2.3倍のエリスリトール収率が認められた。

試験例 2

(発泡性、凝集性及び親水性試験)

●方法

酵母エキス1.0%、グルコース33.5%を含む培地を試験管に入れ、120℃で15分間蒸気滅菌を行った。冷後、培地pHを5.5に調整し、これに種培養液6%を接種した後、30℃、5日間振盪培養を行った。培養終了後、10~15分間静置して泡の生成状態及び菌体(細胞)の凝集状態を観察した(発泡性、凝集性)。

引き続き、培養液と同量のベンゼンを加えて強く攪拌した後、約30分間静置して菌体(細胞)のベンゼン層への移行状態を観察した(親水性)。

●結果

親株であるオーレオバシディウムsp.SN-124A菌株は、液体培地で好氣的に培養したとき著しい発泡を示し、攪拌(振盪)を停止した後も泡は長時間消失しなかった。また、培養液中の菌体(細胞)は、攪拌を停止すると速やかに凝集して沈殿を生じた。

これに対し、本発明の変異株であるオーレオバシディウムsp.SN-G42菌株は上記と同一の条件で培養しても発泡が全く認められず、攪拌(振盪)を停止しても菌体の凝集は生じなかった。

また、上記と同一条件で培養した親株と本発明の変異株の各培養液に、適量のベンゼンを加えてベンゼン-水2層系としたとき、親株の菌体はベンゼン層に移行し、水層には何も残らないが、本発明の変異株の菌体は全て水層にとどまり、ベンゼン層には全く移行しなかった。

試験例 3

(形態観察)

●方法

酵母エキス1.0%、グルコース、33.5%、寒天1.5%から成る平板寒天培地に、白金線を用いて菌体を接種した後、30℃、5日間静置培養し、コロニーの形態を観察した。

●結果

親株であるオーレオバシディウムsp.SN-124A菌株は、平板寒天培地上で表面がシワ状のコロニーを生ずるが、本発明の変異株であるオーレオバシディウムsp.SN-G42菌株は表面が平滑状のコロニーを生じ、外観上著しく相違している。

実施例 1

(変異株の造成)

オーレオバシディウムsp.SN-124A菌株を酵母エキス0.5%、グルコース22%の培地で2日間前培養したものを100倍希釈し、30cmの距離から15Wの紫外線ランプ(東芝殺菌灯「GL15」)を40分間照射する。これを希釈後、寒天培地(酵母エキス1.0%、グルコース33.5%、寒天1.5%)に塗布し、生育してくるものを選抜した。

次に、上記処理で選抜した菌株を再び20分間紫外線照射し、同様に生育してくるものを選抜した。

更に、上記処理で選抜した菌株を1mg/ml濃度のN-メチル-N'-ニトロ-N''-ニトロソグアニジンで30分間処理し、同様に生育してくるものを選抜して、変異株であるオーレオバシディウムsp.SN-G42菌株(FERM P-8940)を得た。

実施例 2

種培養液の調製

グルコース33.5%、酵母エキス1.0%、寒天1.5%から成る斜面培地にオーレオバシディウムsp. SN-G42菌株 (FERM P-8940) の菌体を塗布し、35°Cで2~3日間静置培養する。

次に、グルコース20%、コーンステープリカー (王子コーンステープリカー製) 1.6%を含む液体培地 (pH4.0) 150mlを入れた500ml容の三角フラスコに上記培養菌体を1白金耳植菌し、35°Cで3日間培養を行い、更に、この培養液9mlを同様の液体培地150mlを入れた500ml容の三角フラスコに接種し35°Cで3日間振盪培養することにより調製した。

本培養

グルコース20.0%およびコーンステープリカー1.6%を含む培地15ℓを30ℓ容の発酵槽に入れ、消泡剤 (「シリコーンKS-66」信越化学製) 300ppmを加えたのち、120°Cで20分間蒸気滅菌する。冷却後、カセイソーダを用いて培地のpHを4.0に調整したのち、これにオーレオバシディウムsp. SN-G42菌株 (FERM P-8940) の種培養液6%を加え、温度35°C、通気量0.25vvm、回転数230rpmの条件で7日間培養を行つた。

培養終了後、培養液の分析を行つた結果、グルコースは完全に消費されており、培養液中のエリスリトール収率は49.3%、グリセリン収率は2.2%であつた。

次に、この培養液の一部をとり、遠心分離により菌体を除去し、更に活性炭による脱色およびイオン交換樹脂 (IRA-410: IR-120B = 2: 1) による脱塩を行つた。溶出液を糖濃度50%以上に濃縮し、徐冷することによつて結晶を得、更に、この結晶を水に溶解した後、同様の方法によつて再結晶を行つた。

得られた多面体様の白色結晶はさわやかな甘味を有し、その融点は121°Cであつた。更に、液体クロマトグラフィー、ガスクロマトグラフィー、旋光度及び核磁気共鳴スペクトル等の測定を行つた結果、上記結晶はエリスリトールと同定された。

実施例 3

グルコース20.0%およびコーンステープリカー1.6%を含む培地15ℓを30ℓ容の発酵槽に入れ、消泡剤300ppmを加えたのち、120°Cで20分間蒸気滅菌する。冷却後、カセイソーダを用いて培地の

pHを4.0に調整したのち、上記培地と同一組成の培地を用いて実施例2の方法に従い調製したオーレオバシディウムsp. SN-G42菌株 (FERM P-8940) の種培養液6%を加え、温度35°C、通気量0.50vvm、回転数230rpmの条件で7日間培養を行つた。

培養終了後、培養液の分析を行つた結果、グルコースは完全に消費されており、培養液中のエリスリトール収率は49.2%、グリセリン収率は1.2%であつた。

実施例 4

グルコース20.0%およびコーンステープリカー1.6%を含む培地15ℓを30ℓ容の発酵槽に入れ、消泡剤300ppmを加えたのち、120°Cで20分間蒸気滅菌する。冷却後、カセイソーダを用いて培地のpHを4.0に調整したのち、上記培地と同一組成の培地を用いて実施例2の方法に従い調製したオーレオバシディウムsp. SN-G42菌株 (FERM P-8940) の種培養液6%を加え、温度35°C、通気量0.75vvm、回転数230rpmの条件で7日間培養を行つた。

培養終了後、培養液の分析を行つた結果、グルコースは完全に消費されており、培養液中のエリスリトール収率は46.5%、グリセリン収率は2.7%であつた。

実施例 5

グルコース20.0%およびコーンステープリカー1.6%を含む培地15ℓを30ℓ容の発酵槽に入れ、消泡剤300ppmを加えたのち、120°Cで20分間蒸気滅菌する。冷却後、カセイソーダを用いて培地のpHを4.0に調整したのち、上記培地と同一組成の培地を用いて実施例2の方法に従い調製したオーレオバシディウムsp. SN-G42菌株 (FERM P-8940) の種培養液6%を加え、温度35°C、通気量1.00vvm、回転数230rpmの条件で7日間培養を行つた。

培養終了後、培養液の分析を行つた結果、グルコースは完全に消費されており、培養液中のエリスリトール収率は41.8%、グリセリン収率は1.4%であつた。

実施例 6

グルコース33.5%およびコーンステープリカー4.47%を含む培地5ℓを7ℓ容の発酵槽に入れ、消泡剤300ppmを加えたのち、120°Cで20分間蒸気

滅菌する。冷却後、カセイソーダを用いて培地の pH を 4.2 に調整したのち、上記培地と同一組成の培地を用いて実施例 2 の方法に従い調製したオーレオバシディウム sp. SN-G42 菌株 (FERM P-8940) の種培養液 6 % を加え、温度 35°C、通気量 0.25vvm、回転数 500rpm の条件で 5 日間培養を行った。

培養終了後、培養液の分析を行った結果、グルコースは完全に消費されており、培養液中のエリスリトール収率は 39.7%、グルセリン収率は 7.9 % であつた。

実施例 7

グルコース 39.5% およびコーンステープリカー 4.0% を含む培地 5 ℓ を 7 ℓ 容の発酵槽に入れ、消泡剤 300ppm を加えたのち、120°C で 20 分間蒸気滅菌する。冷却後、カセイソーダを用いて培地の pH を 4.2 に調整したのち、上記培地と同一組成の培地を用いて実施例 2 の方法に従い調製したオーレオバシディウム sp. SN-G42 菌株 (FERM P-8940) の種培養液 6 % を加え、温度 35°C、通気量 0.25vvm、回転数 500rpm の条件で 6 日間培養を行った。

培養終了後、培養液の分析を行った結果、グルコースは完全に消費されており、培養液中のエリスリトール収率は 38.6%、グルセリン収率は 9.5 % であつた。

実施例 8

グルコース 39.5% およびコーンステープリカー 5.3% を含む培地 5 ℓ を 7 ℓ 容の発酵槽に入れ、消泡剤 300ppm を加えたのち、120°C で 20 分間蒸気滅菌する。冷却後、カセイソーダを用いて培地の pH を 4.2 に調整したのち、上記培地と同一組成の培地を用いて実施例 2 の方法に従い調製したオーレオバシディウム sp. SN-G42 菌株 (FERM P-8940) の種培養液 6 % を加え、温度 35°C、通気量 0.25vvm、回転数 500rpm の条件で 5 日間培養を行った。

培養終了後、培養液の分析を行った結果、グルコースは完全に消費されており、培養液中のエリスリトール収率は 37.5%、グリセリン収率は 7.2 % であつた。

実施例 9

グルコース 39.5% およびコーンステープリカー 6.6% を含む培地 5 ℓ を 7 ℓ 容の発酵槽に入れ、

消泡剤 300ppm を加えたのち、120°C で 20 分間蒸気滅菌する。冷却後、カセイソーダを用いて培地の pH を 4.2 に調整したのち、上記培地と同一組成の培地を用いて実施例 2 の方法に従い調製したオーレオバシディウム sp. SN-G42 菌株 (FERM P-8940) の種培養液 6 % を加え、温度 35°C、通気量 0.25vvm、回転数 500rpm の条件で 4 日間培養を行った。

培養終了後、培養液の分析を行った結果、グルコースは完全に消費されており、培養液中のエリスリトール収率は 37.1%、グリセリン収率は 4.8 % であつた。

実施例 10

グルコース 45.0% およびコーンステープリカー 6.0% を含む培地 15 ℓ を 30 ℓ 容の発酵槽に入れ、消泡剤 300ppm を加えたのち、120°C で 20 分間蒸気滅菌する。冷却後、カセイソーダを用いて培地の pH を 4.0 に調整したのち、上記培地と同一組成の培地を用いて実施例 2 の方法に従い調製したオーレオバシディウム sp. SN-G42 菌株 (FERM P-8940) の種培養液 6 % を加え、温度 35°C、通気量 0.25vvm、回転数 230rpm の条件で 8 日間培養を行った。

培養終了後、培養液の分析を行った結果、グルコースは完全に消費されており、培養液中のエリスリトール収率は 37.3%、グリセリン収率は 4.5 % であつた。

実施例 11

シュクロース 33.5% およびコーンステープリカー 4.5% を含む培地 5 ℓ を 7 ℓ 容の発酵槽に入れ、消泡剤 300ppm を加えたのち、120°C で 20 分間蒸気滅菌する。冷却後、カセイソーダを用いて培地の pH を 4.1 に調整したのち、上記培地と同一組成の培地を用いて実施例 2 の方法に従い調製したオーレオバシディウム sp. SN-G42 菌株の種培養液 6 % を加え、温度 35°C、通気量 0.25vvm、回転数 500rpm の条件で 6 日間培養を行った。

培養終了後、培養液の分析を行った結果、シュクロースは完全に消費されており、培養液中のエリスリトール収率は 41.9%、グリセリン収率は 7.4% であつた。

実施例 12

シュクロース 39.5% およびコーンステープリカー 5.3% を含む培地 5 ℓ を 7 ℓ 容の発酵槽に入れ、

15

消泡剤300ppmを加えたのち、120℃で20分間蒸気滅菌する。冷却後、カセイソーダを用いて培地のpHを4.1に調整したのち、上記培地と同一組成の培地を用いて実施例2の方法に従い調製したオーレオバシディウムsp.SN-G42菌株 (FERM P-8940) の種培養液6%を加え、温度35℃、通気量0.25vvm、回転数500rpmの条件で6日間培養を行った。

培養終了後、培養液の分析を行った結果、シュクロースは完全に消費されており、培養液中のエリスリトール収率は42.4%、グリセリン収率は5.8%であった。

実施例 13

シュクロース45.0%およびコーンステープリカー6.0%を含む培地5ℓを7ℓ容の発酵槽に入れ、消泡剤300ppmを加えたのち、120℃で20分間蒸気滅菌する。冷却後、カセイソーダを用いて培地の

16

pHを4.1に調整したのち、上記培地と同一組成の培地を用いて実施例2の方法に従い調製したオーレオバシディウムsp.SN-G42菌株 (FERM P-8940) の種培養液6%を加え、温度35℃、通気量0.25vvm、回転数500rpmの条件で6日間培養を行った。

培養終了後、培養液の分析を行った結果、シュクロースは完全に消費されており、培養液中のエリスリトール収率は41.7%、グリセリン収率は3.8%であった。

〔発明の効果〕

本発明の新規微生物であるオーレオバシディウムsp.SN-G42菌株は、耐糖性、耐熱性に優れ、エリスリトール生産能が高く、しかも発酵培養時に泡の発生が極めて少ないので、工業的に利用する上で大変都合の良いものである。